

#2
B4
12/18/01



PATENT APPLICATION

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

RECEIVED

OCT 03 2001

TECH CENTER 1600/2900

In re application of:

Koji FUJIMOTO

Appln. No.: 09/848,330

Group Art Unit: 1646

Confirmation No.: 7377

Examiner: NOT YET ASSIGNED

Filed: May 04, 2001

For: METHOD OF ASSAYING A SPECIMEN USING A REAGENT

SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENT

Commissioner for Patents
Washington, D.C. 20231

Sir:

Submitted herewith is a certified copy of the priority document on which a claim to priority was made under 35 U.S.C. § 119. The Examiner is respectfully requested to acknowledge receipt of said priority document.

Respectfully submitted,

Mark Boland

Registration No. 32,197

SUGHRUE, MION, ZINN,
MACPEAK & SEAS, PLLC
2100 Pennsylvania Avenue, N.W.
Washington, D.C. 20037-3213
Telephone: (202) 293-7060
Facsimile: (202) 293-7860

Enclosures: Japan 2000-134478

Date: October 1, 2001

RECEIVED
DEC 17 2001
TC 1700

RECEIVED

OCT 03 2001

TECH CENTER 1600/2900

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE



別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日
Date of Application:

2000年 5月 8日

出 願 番 号
Application Number:

特願2000-134478

出 願 人
Applicant(s):

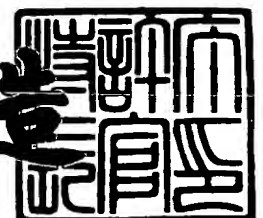
アークレイ株式会社

RECEIVED
DEC 17 2001
TC 1700

2001年 5月31日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2001-3049446

【書類名】 特許願

【整理番号】 0002071

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 G01N 35/00

【発明者】

 【住所又は居所】 京都府京都市南区東九条西明田町 5 7 番地 株式会社京都第一科学内

 【氏名】 藤本 浩司

【特許出願人】

 【識別番号】 000141897

 【氏名又は名称】 株式会社京都第一科学

【代理人】

 【識別番号】 100098969

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 矢野 正行

 【電話番号】 075-602-8500

【手数料の表示】

 【予納台帳番号】 056650

 【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

 【物件名】 明細書 1

 【物件名】 図面 1

 【物件名】 要約書 1

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 試薬を用いた検体測定方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

試薬液が収容される試薬液セル及び検体を希釈する希釈液が収容される希釈液セルの少なくとも 1 種と、検体あるいは希釈検体と前記試薬液とが反応する反応セルと、検体とを準備し、前記試薬液セル及び／又は希釈液セルに測定に必要な量を超える量の試薬液及び／又は希釈液を収容し、分注チップで前記検体又は希釈検体と試薬液とを反応セルに分注した後、その分注チップを前記試薬液セル又は希釈液セルに残存する液で洗浄することを特徴とする測定方法。

【請求項 2】

検体を反応セルに分注する前に、予め分注チップの内部を試薬液セル及び／又は希釈液セル中の液体で前洗浄しておく請求項 1 に記載の測定方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

この発明は、血液などの検体を反応セルに分注し、試薬と反応させて成分分析などの測定を行う方法に属する。

【0002】

【従来の技術】

検体や試薬を反応容器に分注する操作は、作業者によるばらつきを防止するためや人件費の節約、測定時間の短縮化などの理由で機械化されている。このような分注装置は、高価であることから、複数の項目を測定するために複数種類の試薬が用いられる場合であっても、分注装置本体は兼用される。

【0003】

この種の分注装置の複雑化と、試薬同士の混ざり合いによる試薬の汚染を防止するために、特開平 8 - 1 2 2 3 3 6 号公報において、光学測定用の穴（以下、測定セル）と分注チップを保持する保持部と洗浄液を収容する穴（以下、洗浄液セル）とが設けられたカートリッジを用いて 1 本の分注チップ（同公報ではピペ

ットと称している。)で測定する方法が開示されている。

【0004】

前記カートリッジは、血液や体液等の検体を直接、又は希釈セルに存在する検体希釈液で希釈した後に反応セルへ一定量分注され、続いて試薬液セルに収容されている試薬を一定量採取して、既に検体が注入されている前記反応セルに吐出されて測定が開始される場所として利用されている

【0005】

前記カートリッジは検体の分注や希釈、試薬液の分注、洗浄液等の分注操作を1本のピペットで行っている。1本の分注ピペットで分注操作を行っているにも関わらずコンタミネーションが起きないのは、予め洗浄液セルに収容されている洗浄液で分注チップを洗浄するからである。尚、この洗浄液セルは洗浄後の排液を入れる排液セルを兼ねている。1本の分注チップでコンタミネーションが起これなければ、従来の様に分注チップを頻繁に交換したり、チップ洗浄機構は不必要であるため、測定装置が小型化されるメリットがある。

【0006】

上記特開平8-122336号公報記載の測定方法を含めて一般に、測定の開始直後には、カートリッジに収容されている分注チップをノズルに装着して、第一番目の検体又は試薬液等が吸引される。たいていの場合は、何の前処理も行われことなく第一番目の検体又は試薬液等が吸引される。通常、採取した液体を残さずに吐出するために分注チップの内側にシリコン等の処理がされている。粘性の低い液体を採取する場合には、分注チップ内部に液体が残ること無く、きれいに吐出されるため、精度良く液体採取が行える。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

しかし、特開平8-122336号に示されるカートリッジは、分注チップを洗浄するために、専用の洗浄液を収容するための洗浄液セルが必要になる。洗浄が不完全であれば、コンタミネーションが起きてしまうため、最低限コンタミネーションが起これない程度にまで洗浄を行う必要がある。よって洗浄液セルが複数個必要となる。従って、カートリッジのサイズが大きくなり、操作性が悪くな

ってしまう。

【0008】

また、測定開始直後は前記のように新しい分注チップを使わざるを得ないが、全血のように粘性の高い検体を吸引した時には、たとえ前記のように分注チップの内側がシリコン処理されていても吸引量に誤差を生じ、結果として測定結果に誤差が生じてしまう。これは、全血が親水性と疎水性の2面性を持つのに対し、分注チップが強い疎水性を発揮するため、吸引過程で強い抵抗を受け、更に粘性による影響も受けやすいために起こる現象ではないかと思われる。

それ故、この発明の第一の課題は、洗浄専用のセルを設けることなくチップを洗浄することのできる測定方法を提供することにある。第二の課題は、分注チップで所定量の液体を正確に採取することのできる測定方法を提供することにある。

【0009】

【課題を解決するための手段】

その第一の課題を解決するために、この発明の測定方法は、

試薬液が収容される試薬液セル及び検体を希釈する希釈液が収容される希釈液セルの少なくとも1種と、検体あるいは希釈検体と前記試薬液とが反応する反応セルと、検体とを準備し、前記試薬液セル及び／又は希釈液セルに測定に必要な量を超える量の試薬液及び／又は希釈液を収容し、分注チップで前記検体又は希釈検体と試薬液とを反応セルに分注した後、その分注チップを前記試薬液セル又は希釈液セルに残存する液で洗浄することを特徴とする。

【0010】

この発明の測定方法によれば、測定に必要な量より余分の試薬液及び／又は希釈液で分注チップを洗浄するので、別途洗浄液を準備する必要はない。また、測定に必要な量の試薬液及び／又は希釈液を分注した後、当該試薬液セル又は希釈液セル内で分注チップを洗浄することができるので、別途洗浄槽や廃棄槽を準備する必要もない。

【0011】

洗浄後の排液を、採取したセルに戻さずに測定に関与しない別のセルに廃棄す

れば、試薬液又は希釈液が残存している限り繰り返し洗浄を行うこともできる。

また、セルに残存する希釈液又は試薬液が1回分の洗浄に満たない場合は、残存する液体全てを吸引した後に、別のセルに残存する希釈液又は試薬液を吸引して補い、洗浄を行っても良い。そうすれば、排液専用のセルを設ける必要はなく、必要に応じて任意のセルを設定することができる。設定された任意のセルは、容量の許される範囲で複数回の排液を収容することも可能である。

【0012】

上記第二の課題を解決するために、この発明の測定方法は、上記測定方法に更に、検体を反応セルに分注する前に、予め分注チップの内部を試薬液セル及び／又は希釈液セル中の液体で前洗浄しておくことを特徴とする。

この様に新しいチップを試薬液又は希釈液で濡らしておくことによって、次に吸引する検体又は試薬液を正確に採取することができる。この事により粘性の高い全血検体と粘性の低い血漿検体または血清検体における分注量間差を小さくすることが可能となる。

【0013】

また、新しい分注チップを予め濡らしておくことによって、次に吸引する検体又は試薬液が精度良く採取することができるだけでなく、その後分注チップを洗浄する際に、洗浄効果を上げる事も期待される。これは、分注チップ内部のシリコン表面が前洗浄の液体によってコーティングされるためと考えられる。

【0014】

【発明の実施の形態】

この発明の分注チップ洗浄方法の実施形態を図面と共に説明する。図1は分注に用いられる4つのセルが一体的に連なった4連式のカートリッジと検体容器とを示す断面図である。

【0015】

カートリッジ1は、例えばポリスチレン樹脂製、アクリル樹脂製、塩化ビニル樹脂製等のプラスチック製又はガラス製のものを使用することができるが、低価格であり、光透過性がよく、取扱いが容易なポリスチレン樹脂製のものを好適に使用することができる。

【 0 0 1 6 】

そしてカートリッジ 1 は、左端より順に第一反応セル 2、第一試薬液セル 3、第二反応セル 4 及び第二試薬液セル 5 を有し、これらセルが一体成形によって連なるように形成されている。第一試薬液セル 3 及び第二試薬液セル 5 には測定に必要な量より多い試薬液 A 及び試薬液 B がそれぞれ予め入れられている。また、カートリッジ 1 の近くに置かれた検体容器 6 には複数項目の測定に必要な量以上の検体が入れている。

【 0 0 1 7 】

全てのセルは、収容されている液体が運搬時にこぼれないようにシールされている。シール剤としては、アルミはく、各種高分子フィルム等を単独又はラミネートして使用することができ、使用開始時には手で開封しても良いし、プレーカー等により破って使用することもできる。

【 0 0 1 8 】

測定が開始される際には、先ず新しい分注チップをノズルに装着し、第一試薬液セル 3 に収容されている試薬 A を分注チップで吸引、吐出した後、測定に必要な量の試薬 A を吸引し、第一反応セル 2 に吐出する。次に同じ分注チップで第二試薬液セル 5 から測定に必要な任意の量の試薬 B を吸引し、第二反応セル 4 に吐出する。この段階ではカートリッジ 1 は、図 2 に示すように第一反応セル 2 及び第二反応セル 4 は、それぞれ試薬液 A 及び試薬液 B の反応槽となり、第一試薬液セル 3 及び第二試薬液セル 5 は洗浄槽となる。

【 0 0 1 9 】

続いて前記分注チップにより検体容器 6 から測定に必要な量の検体量を吸引して、第一反応セル 2 に吐出し、分注チップで吸引と吐出を数回繰り返すことにより攪拌を行い試薬液と検体を反応させる。その後、試薬液セル 5 に残存する試薬液 B を、分注チップで吸引と吐出を繰り返すことにより分注チップの洗浄を行う。洗浄後の分注チップで検体容器 6 から測定に必要な検体量を吸引して、第二反応セル 4 に吐出し、分注チップで吸引と吐出を数回繰り返すことにより攪拌を行い試薬液と検体を反応させる。

【 0 0 2 0 】

反応が完結したと認められる所定時間が経過したら、反応に伴う試薬液の変色又は濁度変化を光学的に検出し、検体中の特定成分濃度を出力する。

新しい分注チップを試薬液 B で馴染ませることにより、試薬液 B を正確に採取することができ、更に分注チップの洗浄効果も上がることが期待できる。洗浄に用いる試薬液 B は、第二試薬液セル 5 の残存液であり、第二反応セルにおける反応液と同一であるため、反応に影響を及ぼす心配がない。

【 0 0 2 1 】

－実施例 2－

これは、新しい分注チップを使用して全血を採取する場合と、分注チップを予め試薬液又は希釈液で前洗浄した後に全血を採取した場合とで比較し、全血が正確に採取できたかどうかを確認する実験である。

【 0 0 2 2 】

本例では、検体希釈液として 0、5 % サポニン生理食塩水を使用した。まず、ノズルの先端に分注チップを装着し、前洗浄なしに直接全血を $10\mu\text{l}$ 吸引し、分注チップ内部にある全血を吐出させて重さを測定した。次に、別の新しい分注チップをノズルの先端に装着し、0、5 % サポニン生理食塩水を吸引し吐出することにより前洗浄した後、全血を $10\mu\text{l}$ 吸引し、分注チップ内部にある全血を吐出させ、電子天秤で重さを測定した。その結果を表 1 に示す。

【 0 0 2 3 】

【表 1】

	前洗浄なし	前洗浄あり
1	0.0086	0.0099
2	0.0083	0.0104
3	0.0085	0.0106
4	0.0085	0.0107
5	0.0085	0.0106
平均	0.0085	0.0104

〔単位＝グラム〕

【0024】

表に示す通り、新しい分注チップで採取した場合と、0.5%サポニン生理食塩水で前洗浄した場合とで明らかに差が見られた。

血液の比重が1.07であったことから、 $10\mu\text{l}$ の真の重量は、0.0107になる。分注チップの前洗浄ありの方は、バラツキがあるものの真値に近い値を示している。

一方、前洗浄なしの方は、真値から非常に離れた値を示しており、分注チップ内部を前洗浄しておくことにより、全血を正確に採取することができる。

【0025】

次に検体を検体希釈液で希釈を行うカートリッジの説明を行う。

図3に断面図として示すように、カートリッジ11は、実施例1と同様に透明プラスチックなどからなり、左端より順に分注チップ収容セル12、希釈液セル13、第一反応セル14、第一試薬液セル15、第二反応セル16、第二試薬液セル17を有し、これらのセルが一体成型によって連なるように形成されている。希釈液セル13には、検体を希釈するための希釈液が必要量より多く収容されている。同様に第一試薬液セル15、第二試薬液セル17には、測定に必要な量

より多い試薬液A及び試薬液Bがそれぞれ予め入れられている。また、カートリッジ11の近くに置かれた検体容器18には測定を行うための検体として、全血や血清又は血漿が収容されている。

【0026】

実際の測定は、まず分注チップ収容セル12に収容されている分注チップをノズルに装着し、希釈液セル13に収容されている検体希釈液を吸引し、吐出することによって分注チップを馴染ませる。続いて同じ検体希釈液を必要量吸引して、第一反応セル14に吐出する。更に続いて同じ検体希釈液を必要量吸引して、第二反応セル16に吐出する。測定項目に応じて検体の希釈倍率が異なるため、検体希釈液と検体量は、測定項目によって採取量が異なる。

【0027】

検体容器18には、各種の検体が収容されるが、全血が収容されている場合は、採血時から時間が経過しており、血球層と血漿層に分離されているため、分注チップで吸引と吐出を繰り返して攪拌を行った後に一定量吸引し、第一反応セル14に吐出する。希釈検体の攪拌は、分注チップの吸引と吐出を繰り返して行う。

【0028】

試薬液Aを分注チップで吸引する前に、残存する希釈液で第1回目の洗浄を行う。前記洗浄方法は、前記残存する希釈液で吸引と吐出を何回か繰り返す事により行う。洗浄後試薬液Aを一定量吸引し、第一反応セル14に吐出する。分注チップで吸引と吐出を何回か繰り返すことで攪拌を行い、試薬液Aと希釈検体を反応させる。

【0029】

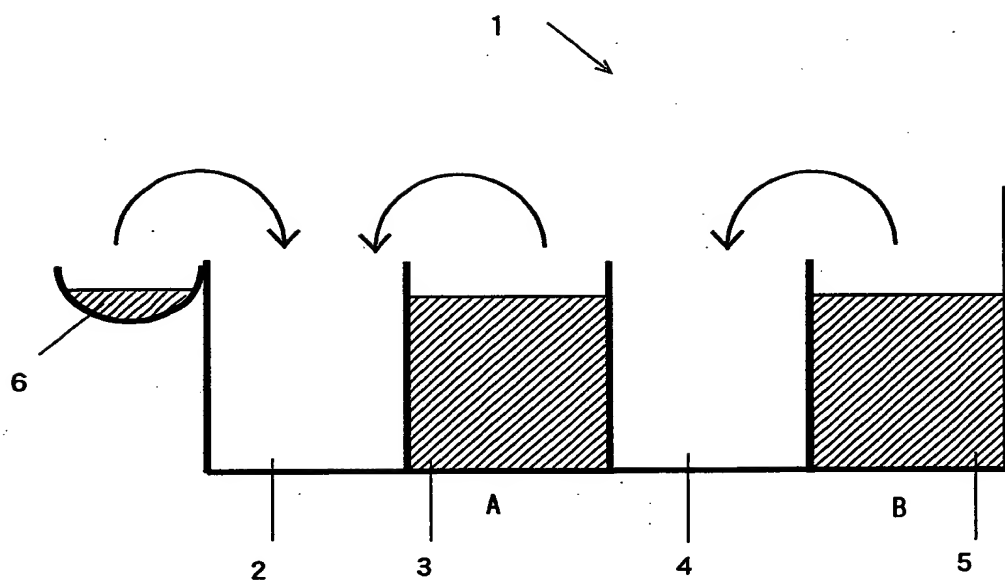
次に、第一試薬液セル15に残存する試薬液Aで吸引と吐出を繰り返して分注チップの2回目の洗浄を行う。第二試薬液セル17に収容されている試薬液Bを一定量吸引し、第二反応セル16に吐出して、吸引と吐出を何回か繰り返すことで攪拌を行い、試薬液Bと希釈検体を反応させる。

【0030】

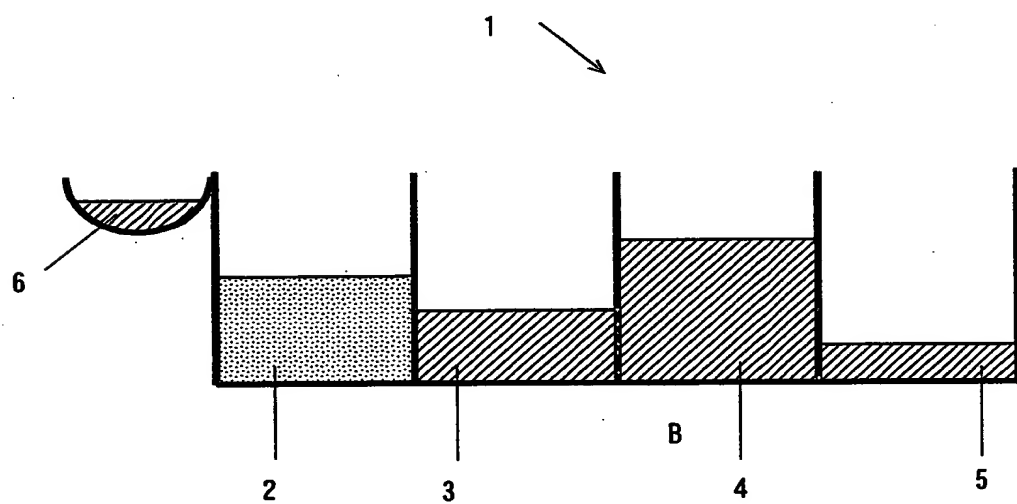
分注チップの第一回目の洗浄を検体希釈液で、第二回目の洗浄を残存する試薬

【書類名】 図面

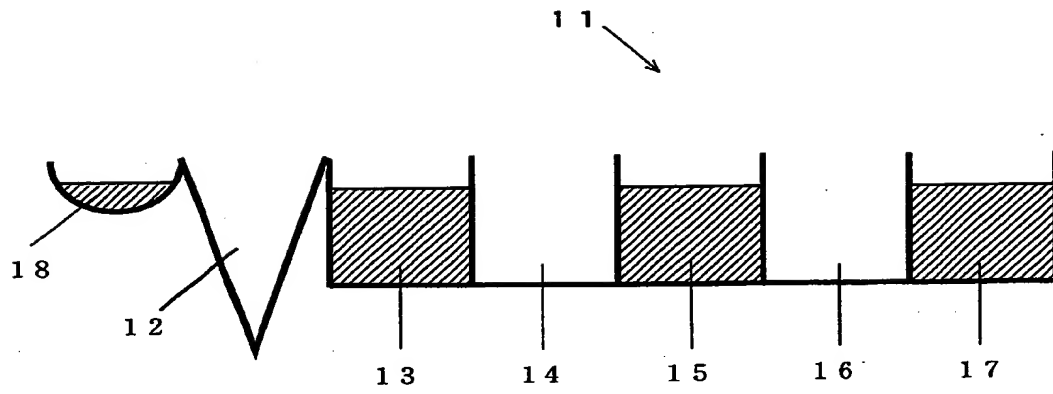
【図 1】



【図 2】



【図 3】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 洗浄専用のセルを設けることなくチップを洗浄することのできる測定方法、並びに分注チップで所定量の液体を正確に採取することのできる測定方法を提供する。

【解決手段】 試薬液が収容される試薬液セル及び検体を希釈する希釈液が収容される希釈液セルの少なくとも1種と、検体あるいは希釈検体と前記試薬液とが反応する反応セルと、検体とを準備し、前記試薬液セル及び／又は希釈液セルに測定に必要な量を超える量の試薬液及び／又は希釈液を収容し、分注チップで前記検体又は希釈検体と試薬液とを反応セルに分注した後、その分注チップを前記試薬液セル又は希釈液セルに残存する液で洗浄することを特徴とする。

【選択図】 なし

認 定 ・ 付 加 情 報

特許出願の番号	特願 2 0 0 0 - 1 3 4 4 7 8
受付番号	5 0 0 0 0 5 6 3 4 2 4
書類名	特許願
担当官	第一担当上席 0 0 9 0
作成日	平成 1 2 年 5 月 9 日

< 認定情報・付加情報 >

【提出日】	平成12年 5月 8日
-------	-------------

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000141897]

1. 変更年月日 1990年 8月11日
[変更理由] 新規登録
住 所 京都府京都市南区東九条西明田町57番地
氏 名 株式会社京都第一科学
2. 変更年月日 2000年 6月12日
[変更理由] 名称変更
住 所 京都府京都市南区東九条西明田町57番地
氏 名 アークレイ株式会社



Creation date: 01-15-2004

Indexing Officer: JACKERMANWILSON - JEAN ACKERMAN-WILSON

Team: OIPEBackFileIndexing

Dossier: 09848330

Legal Date: 09-29-2002

No.	Dccode	Number of pages
1	SRNT	2

Total number of pages: 2

Remarks:

Order of re-scan issued on